

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی استان اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه دکتری حرفه ای پزشکی

عنوان :

**بررسی اثر ضد لیشمانیایی عصاره سیاه تخمه (*Agrostemma githago*) به دو روش تزریقی و  
تاپیکال روی زخم‌های ناشی از لیشمانیا مازور در موش بальسی**

استاد راهنما:

**دکتر بهنام محمدی قلعه بین**

اساتید مشاور :

**دکتر شهاب بهلولی**

**دکتر علی نیاپور**

نگارش:

**یاسمن صمدزاد اتحادی**

شماره پایان نامه: ۰۷۶۹

دی ماه ۱۳۹۸

بسمه تعالی

دانشکده پزشکی و پیراپزشکی

صورت جلسه دفاع

## تقدیر

با افتخار، ثمره‌ی ماه‌ها تلاش خود را تقدیم می‌کنم به افرادی که سال‌ها برای به ثمر نشستن تک میوه‌ی درخت آرزوهایشان تلاش کردند و مرارت کشیدند که هرچه بدان رسیدم من جمله این کتیبه و هر چه از آن من است، سراسر از لطف و فداکاری و صبر و تحمل ایشان است و بس.

به پدر استوارم که کهن دماوند، در مقابلش سر تعظیم فرود می‌آورد و به مادر مهربانم که ملائک بی وقفه بر دستانش بوسه می‌زنند. پدر و مادری فرشته‌خو، نیک صفت و پاک آیین که در دستگیری و درستی و دوستی و مهرورزی، جهان همانندشان را ندیده و نخواهد دید. والا مقامانی فروتن که غریوهای سهمگین روزگار را فروخوردند و خم به ابرو نیاوردند. زلفشان همچون رویشان سپید گشت تا روی جهان من زیبا بماند.

پدرم، مادرم، بهشتیان زمینی من.

بوسه بر دستان پرمهرتان می‌زنم و این پایان‌نامه را تقدیم چشم‌های پرمهر همیشه نگران‌تان می‌کنم، باشد که بماند به یادگار از تلفیق مهر، هنر، علم و دانش.

بدینوسیله سپاس فراوان خود را از استاد ارجمند، جناب آقای دکتر بهنام محمدی قلعه بین، اعلام می‌دارم. استادی که در عنوان استاد راهنما و در واقع در حکم پدری دلسوز و مهربان، همانند معلمی فداکار و قاطع و چون راه‌گشایی همیشه حاضر از ابتدا تا واپسین پیچ‌های این هزارتوی سردرگم، نور لطف و هدایت و حضورشان راهگشای مسیر تاریک پیش رو گشت و به زیبایی تمام، سرانجام هرچه نکوتر این مطالعه را رقم زد.

از اساتید مهربان مشاور، جناب آقای دکتر شهاب بهلولی و جناب آقای دکتر علی نیاپور که بی وقفه با نهایت مهر و دلسوزی در به انجام رساندن این پایان‌نامه یاریگر من بودند سپاسگزاری کرده و از زحمات بی پایان‌شان قدردانی می‌نمایم.

از جناب آقای اداک، مسول محترم خانه حیوانات به سبب الطاف بی دریغشان سپاسگزارم.

و اما رفیقانم... دوستانی بهتر از آب روان. نارنج و ترنج های این جنگل تاریک پرهول و هراس که اگر نبودند نمیشد و نمی توانستم. سرگل های این باغ، جناب آقای رضا زارنجی عزیز و شایلین دباغ مهربانم که بی وقفه و بی انتظار همراه و همدل من بودند. سپاس ویژه و فراوان من با نهایت مهر و دوستی و احترام نثارشان باد.

در نهایت از جناب آقای دکتر گل محمدی، بابت تمام زحماتشان، از سرکار خانم هوشیار، مسئول آزمایشگاه داروسازی، از تمامی مسئولین آزمایشگاه های دانشکده پزشکی، از نگهبانان زحمتکش دانشکده و از تمامی عزیزانی که در این مسیر الطاف خرد و کلانشان شامل حال من شد، نهایت تشکر و قدردانی را دارم.

## فهرست مطالب

عنوان	صفحه
<b>فصل اول: طرح تحقیق</b>	
۱-۱ مقدمه و بیان مسئله.....	۲
۲-۱ روش اجرای طرح.....	۲
۳-۱ تعریف واژه های کلیدی.....	۳
۴-۱ اهداف تحقیق.....	۴
۱-۴-۱ اهداف.....	۴
۱-۱-۴-۱ هدف کلی.....	۴
۲-۱-۴-۱ اهداف اختصاصی.....	۴
۳-۱-۴-۱ اهداف کاربردی.....	۴
۴-۱-۴-۱ فرضیات یا سؤالات تحقیق.....	۴
<b>فصل دوم: پیشینه تحقیق</b>	
۱-۲ تاریخچه لیشمانیا.....	۷
۲-۲ کلیات لیشمانیا.....	۸
۳-۲ انواع لیشمانیا.....	۱۱
۱-۳-۲ لیشمانیوز احشایی (Visceral).....	۱۱
۱-۱-۳-۲ لیشمانیوز احشایی شهری (AVL).....	۱۲
۲-۱-۳-۲ لیشمانیوز احشایی روستایی (ZVL).....	۱۲
۲-۳-۲ لیشمانیوز جلدی (Cutaneous).....	۱۳
۱-۲-۳-۲ لیشمانیوز جلدی شهری (ACL).....	۱۴

۱۵	۲-۲-۳-۲ لیشمانیوز جلدی روستایی (ZCL) .....
۱۷	۳-۳-۲ سایر اشکال لیشمانیا .....
۱۷	۱-۳-۳-۲ لیشمانیوزیس پوستی به دنبال کالاآزار (PKDL) .....
۱۷	۲-۳-۳-۲ لیشمانیوز پوستی عودکننده (لوپوئید) .....
۱۸	۳-۳-۳-۲ عفونت همراه لیشمانیا HIV .....
۱۸	۴-۳-۳-۲ لیشمانیوزیس ویسروتروپیک .....
۱۸	۵-۳-۳-۲ اشکال بالینی غیر معمول (آتیپیک) .....
۱۸	۱-۵-۳-۳-۲ شکل اسپوروتریکویید .....
۱۹	۲-۵-۳-۳-۲ شکل زرد زخمی .....
۱۹	۳-۵-۳-۳-۲ شکل شاخی .....
۱۹	۴-۵-۳-۳-۲ شکل بادرخی .....
۱۹	۵-۵-۳-۳-۲ شکل سودایی .....
۱۹	۶-۵-۳-۳-۲ شکل زگیلی .....
۲۰	۷-۵-۳-۳-۲ شکل توموری .....
۲۰	۸-۵-۳-۳-۲ شکل زونایی .....
۲۰	۴-۲ اپیدمیولوژی .....
۲۰	۱-۴-۲ تعاریف .....
۲۰	۲-۴-۲ آمار غیراختصاصی .....
۲۱	۳-۴-۲ آمار WHO بر اساس منطقه و گونه لیشمانیا .....
۲۲	۴-۴-۲ اپیدمیولوژی با توجه به گونه لیشمانیا .....

۲۲	۱-۴-۴-۲ لیشمانیوز احشایی
۲۲	۲-۴-۴-۲ لیشمانیوز جلدی
۲۳	۱-۲-۴-۴-۲ لیشمانیوز جلدی شهری (ACL)
۲۳	۲-۲-۴-۴-۲ لیشمانیوز جلدی روستایی (ZCL)
۲۳	۳-۴-۴-۲ لیشمانیوزیس پوستی به دنبال کالآزار (PKDL)
۲۳	۴-۴-۴-۲ عفونت همراه لیشمانیا HIV
۲۴	۵-۲ ریسک فاکتورهای اصلی ابتلا به لیشمانیوز
۲۴	۱-۵-۲ شرایط اجتماعی اقتصادی
۲۴	۲-۵-۲ سوء تغذیه
۲۴	۳-۵-۲ جا به جایی جمعیت
۲۴	۴-۵-۲ تغییرات محیطی
۲۴	۵-۵-۲ تغییرات جوی
۲۵	۶-۲ کلیاتی پیرامون ناقل لیشمانیا (پشه خاکی ها)
۲۵	۱-۶-۲ تعریف
۲۵	۱-۱-۶-۲ خانواده سایکودیده
۲۶	۷-۲ چرخه زندگی انگل
۲۶	۱-۷-۲ مراحل انگل
۲۶	۲-۷-۲ سیکل زندگی انگل
۲۷	۸-۲ پاسخ ایمنی بدن به انگل
۲۸	۹-۲ شناسایی انگل



۲۹	۱۰-۲ تشخیص بیماری
۲۹	۱-۱۰-۲ لیشمانیوز احشایی
۲۹	۱-۱-۱۰-۲ انگل شناسی
۲۹	۲-۱-۱۰-۲ سرولوژی
۳۰	۲-۱۰-۲ لیشمانیوز جلدی
۳۱	۳-۱۰-۲ مراحل تشخیص
۳۲	۱۱-۲ پیشگیری
۳۴	۱۲-۲ درمان لیشمانیوز
۳۵	۱-۱۲-۲ درمان لیشمانیوز احشایی
۳۶	۲-۱۲-۲ درمان لیشمانیوز جلدی
۳۷	۱-۲-۱۲-۲ درمان استاندارد در ایران
۳۸	۱۳-۲ مطالعات پیرامون روش های درمان لیشمانیا در ایران
۳۸	۱-۱۳-۲ مطالعات درمانی غیر گیاهی
۳۹	۲-۱۳-۲ مطالعات درمانی گیاهی بر لیشمانیا ماژور
۴۱	۱-۲-۱۳-۲ سیاه تخمه

### فصل سوم: شیوهی اجرای تحقیق

۴۴	۱-۳ نوع پژوهش
۴۴	۲-۳ مواد آزمایشگاهی مورد استفاده در تحقیق
۴۵	۳-۳ تجهیزات آزمایشگاهی
۴۶	۴-۳ وسایل و ظروف مورد استفاده

۴۶	۵-۳ روش تهیه مواد استفاده شده در تحقیق
۴۶	۱-۵-۳ محیط کشت RPMI آماده
۴۶	۱-۱-۵-۳ محلول PBS(1X) با حجم یک لیتر
۴۷	۲-۱-۵-۳ محلول تریپان بلو ۴٪
۴۷	۲-۵-۳ پماد آگروستما
۴۷	۳-۵-۳ عصاره ی تزریقی
۴۷	۶-۳ روش کار
۴۷	۱-۶-۳ کشت انگل
۴۷	۲-۶-۳ استخراج عصاره آبی از گیاه سیاه تخمه
۴۸	۳-۶-۳ تهیه موش بآلب سی، ایجاد زخم
۴۸	۴-۶-۳ گروه بندی موش ها و روش درمان
۴۹	۵-۶-۳ آنالیز آماری
۴۹	۶-۶-۳ ملاحظات اخلاقی

#### فصل چهارم: نتایج

۵۱	۱-۴ نتایج اندازه گیری وزن موش ها
۵۱	۲-۴ نتایج اندازه گیری زخم موش ها

#### فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری

۵۵	۱-۵ بحث
۵۷	۲-۵ نتیجه گیری
۵۷	۳-۵ پیشنهادات



## فهرست شکل ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۲. موش رومبومیس آپیموس .....	۹
شکل ۲-۲. سگ مبتلا به لیشمانیوز .....	۹
شکل ۳-۲. پشه خاکی فلوبوتوموس در حال خونخواری .....	۱۰
شکل ۴-۲. لیشمانیوز فرم لوپوئید .....	۱۸
شکل ۵-۲. لیشمانیوز فرم اسپوروتر کیو یید .....	۱۹
شکل ۴-۲. چرخه زندگی .....	۲۷
شکل ۵-۲. نحوه نمونه برداری .....	۳۱
شکل ۶-۲. محیط کشت NNN .....	۳۲

## فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
نمودار ۴-۱. تغییرات وزن موش ها در گروه های مختلف مورد مطالعه .....	۵۱
نمودار ۴-۲. مقایسه اندازه زخم ها در طول سه هفته پس از شروع درمان در گروه های مختلف .....	۵۲
نمودار ۴-۳. مقایسه میزان بار انگل در پایان هفته سوم پس از شروع درمان در گروه های مختلف .....	۵۳

## فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحه
جدول ۱-۳. مواد آزمایشگاهی مورد استفاده در تحقیق .....	۴۴
جدول ۲-۳. تجهیزات آزمایشگاهی .....	۴۵
جدول ۳-۳. وسایل و ظروف مورد استفاده .....	۴۶

## اختصارات

**ACL:** Anthroponotic Cutaneous Leishmaniasis  
**AVL:** Anthroponitic VL  
**BCG:** Bacille Calmette-Guerin  
**CL:** Cutaneous Leishmaniasis  
**DAT:** Direct Agglutination Test  
**ELISA:** Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay  
**HIV:** Human Immunodeficiency Viruses  
**IL-12:** Interleukin-12  
**IFN- $\gamma$ :** Interferon gamma  
**IFA:** Indirect Fluorescent Antibody  
**KDNA:** Kinetoplastids DNA  
**NK:** Natural killer cells  
**NO:** Nitric Oxide  
**NNN:** Novy-MacNeal-Nicolle  
**PCR:** polymerase chain reaction  
**PKDL:** Post-kala-azar dermal leishmaniasis  
**Th:** T helper cells  
**WHO:** World Health Organization  
**ZCL:** Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis  
**ZVL:** Zoonotic VL (ZVL)

## چکیده

### بررسی اثر ضد لیشمانیایی عصاره سیاه تخمه (*Agrostemma githago*) به دو روش تزریقی و تاپیکال روی زخم های ناشی از لیشمانیا ماژور در موش بालب سی

**مقدمه و هدف:** لیشمانیوزیس شامل گروهی از بیماری ها می باشد که توسط پروتوزاهای بیش از بیست گونه از انگل لیشمانیا ایجاد می شود که توسط نیش پشه ی خاکی گروه فلبوتومینه به انسان انتقال می یابد. لیشمانیوز جلدی شایع ترین فرم بیماری می باشد. در حال حاضر درمان این بیماری بیشتر توسط ترکیبات آنتی موان انجام می شود که با مشکلاتی مانند مقاومت انگل همراه است. این مطالعه با هدف ارزیابی تاثیر ضد لیشمانیایی عصاره سیاه تخمه (*Agrostemma githago*) علیه لیشمانیا ماژور در موش بालب سی مبتلا، در شرایط *in vivo* و مقایسه تاثیر آن با ترکیبات مگلو مین آنتی موان (MA, Glucantime) انجام گرفته است.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه، پروماستیگوت های لیشمانیا ماژوراز سویه (MRHO/IR/ 75/ ER) در فاز ایستایی به قاعده دم موش های بालب سی ماده، جهت ایجاد زخم تزریق شد. درمان موضعی با استفاده از غلظت های ۱۰ و ۲۰ میلیگرم بر کیلوگرم از عصاره سیاه تخمه به شکل تزریق داخل زخم و دو روز در میان و همچنین با غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۵ درصد پماد عصاره روی زخم روزانه و به مدت سه هفته، تحت درمان قرار گرفتند. توزین موش ها و اندازه گیری زخم ها در ابتدا و سپس هر هفته به مدت سه هفته انجام شد. در پایان دوره درمان از بافت زخم ها، لام پاتولوژی تهیه و بار انگلی نمونه ها تعیین گردید.

**نتایج:** نتایج مطالعه تغییرات معناداری در وزن موش های گروه های مختلف نشان نداد. بررسی اندازه زخم ها، اختلاف معنی دار قابل توجهی بین گروه کنترل با تمام گروه های تحت درمان با عصاره سیاه تخمه و گلوکانتیم را نشان داد ( $P<0.001$ ). بعد از درمان گروه های تزریقی با غلظت ۱۰ و ۲۰ میلیگرم بر کیلوگرم و گروه پماد ۰/۵٪، میانگین اندازه زخم ها، نسبت به بقیه گروه ها و همچنین نسبت به گروه گلوکانتیم، کاهش معناداری پیدا کرد ( $P<0.05$ ). تعیین بار انگلی در گروه های مختلف مورد مطالعه، اختلاف معنی داری بین گروه کنترل با تمام گروه های تحت درمان را نشان داد ( $P<0.001$ ). در گروه های تزریقی ۲۰ میلیگرم بر کیلوگرم و گروه پماد ۰/۵٪ نسبت به گروه گلوکانتیم کاهش بار انگلی تفاوت معنی داری داشت.

**نتیجه گیری:** عصاره آبی تخم آگروستما گیتاگو در شرایط *In vivo* اثر آنتی لیشمانیایی قوی علیه لیشمانیا ماژور دارد.



**کلمات کلیدی:** لیشمانیا مازور، سیاه تخمه، موش بالب سی، بار انگلی